

·特约综述·

针灸调控自噬溶酶体通路治疗神经系统等疾病的 机制研究进展

卢珂佳, 宋聚先

(广州中医药大学针灸康复临床医学院, 广东广州 510006)



作者简介:宋聚先, 广州中医药大学杏林学者, 研究员, 博士生导师, 香港浸会大学访问副教授。2011年获得香港大学中药药理学博士学位。2012年至2017年于香港浸会大学中医药学院任职博士后, 研究助理教授。主持和参与国家自然科学基金、香港研究资助局(GRF)等数项研究课题, 以第一和通讯作者在 *Autophagy*, *Aging Cell*, *Drug Discovery Today* 等专业期刊发表SCI论文10余篇, 获得美国及中国专利6项, 担任 *Frontiers in Pharmacology* 客座编委。主要研究方向为中医药调节细胞自噬治疗神经退行性疾病的分子机制研究及新药开发, 近年来在针刺通过调控自噬治疗阿尔茨海默病的分子机制研究方面取得一定突破性成果。E-mail: juxian.song@gzucm.edu.cn

摘要:作为中国传统医学的重要组成部分, 针灸的疗效与现代科学内涵越来越受到人们的关注。近年来严格的随机对照临床试验证实了针灸对某些优势病种的疗效, 基础研究初步揭示了针灸治病的作用机理。本文通过分析过往文献, 结合本团队的相关研究工作, 综述了针灸治疗神经系统等疾病的自噬溶酶体通路(ALP)调控机制的研究进展。我们发现, 在不同疾病模型中, 针灸通过上调或者下调ALP改善相关病理, 且穴位分布与ALP的单向/双向调节存在一定相关性; 但是目前的研究在实验设计和方法学方面存在一定的缺陷, 针灸调控ALP的分子机制有待进一步阐明。

关键词:针刺; 艾灸; 自噬溶酶体通路

中图分类号: R245

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2023)01-0010-08

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0103

Research Progress on Mechanism of Acupuncture for Neurological and Other Diseases by Regulating Autophagy-Lysosomal Pathway

LU Ke-jia, SONG Ju-xian

(Clinical Medical College of Acupuncture-Moxibustion and Rehabilitation, Guangzhou University of Chinese Medicine,
Guangzhou, 510006, China)

Correspondence to: SONG Ju-xian; E-mail: juxian.song@gzucm.edu.cn

Abstract: As an important part of traditional Chinese medicine, the efficacy and scientificity of acupuncture have attracted more and more attention. In recent years, rigorous randomized controlled clinical trials have confirmed the efficacy of acupuncture on certain dominant diseases, and basic researches have partially revealed the mechanism of acupuncture for treating diseases. By analyzing published literatures and referring to relevant studies from our research team, this paper reviews the mechanisms of acupuncture for treating neurological and other diseases via regulating the autophagy-lysosomal pathway (ALP). We found that acupuncture improved related pathologies in different disease models by up-regulating or

收稿日期: 2022-08-11

基金项目: 国家自然科学基金(82074042)

down-regulating ALP, and there is a certain correlation between the distribution of acupoints and the one-way/two-way regulation of ALP; however, the current studies have some defects in experimental design and methodology, and the molecular mechanisms of acupuncture on ALP regulation remain to be further elucidated.

Key words: acupuncture; moxibustion; autophagy-lysosomal pathway

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2023, 44(1): 10-17]

针灸疗法是中国传统医学特有的治疗手段之一,其使用方法既可以单独运用刺法或灸法,也可将两者结合同时施用以达到消除病痛的目的。中医临床工作积累了针灸有效救治不同类型疾病的丰厚经验,且在临床研究中逐步得到证实^[1]。但是针灸治疗效应的物质基础是什么,不同条件的针灸方案对疾病病理机制的调控效果是否一致,以及如何从调控病理机制的角度优化针灸治疗方案,增强疗效等医学空白急需严谨的基础研究成果来填补。自噬(autophagy)是真核细胞降解长寿蛋白和细胞器,维持细胞稳态的主要代谢机制^[2]。自噬体与溶酶体相互协作降解底物的生物机制又称作自噬溶酶体通路(the autophagy-lysosome pathway, ALP)。ALP异常与一系列疾病(包括神经退行性疾病、代谢性疾病、感染性疾病、癌症等)的发生、发展密切相关。在不同疾病中,或在某种疾病的不同的病理阶段,ALP的上调与下调可能扮演不同的角色(抑制或者促进病理发展)。本文综述了针灸通过调节ALP来改善疾病病理机制的研究进展,并提出研究存在的问题与不足,以期针灸基础研究提供一些建议。

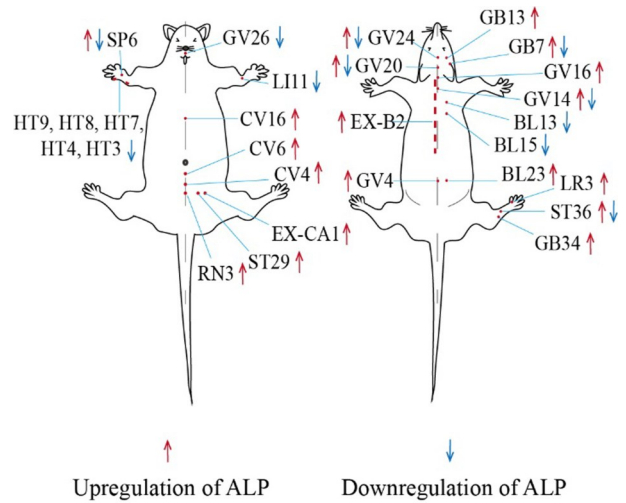
1 针灸穴位分布与调节ALP的关系

针灸的作用与穴位的选取密不可分。通过回顾针灸调控ALP治疗不同疾病的实验研究,我们发现参与调控ALP的腧穴(图1)有以下特点:分布在躯干部的腧穴对ALP的调节作用一般是单向的,如心俞(BL15)、肺俞(BL13)在治疗心肌病中参与下调ALP^[3-4];而分布在头部及四肢的部分腧穴更倾向于具备双向调节ALP的作用,如大椎(GV14)、百会(GV20)、神庭(GV24)等既可能在治疗阿尔兹海默症中参与上调ALP^[5-6],又可能在治疗脑缺血中参与下调ALP^[7-8]。

2 针灸通过上调ALP治疗疾病

2.1 阿尔茨海默症

阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)俗称老年痴呆,是最常见的神经退行性疾病,患者脑部皮层与海马神经元中 β -淀粉样蛋白(β -Amyloid protein, A β)聚集形成老年斑,以及过度磷酸化的微管相关蛋白tau聚集形成神经纤维缠结是主要的病理标志物。A β 、tau蛋白可通过ALP降解,



ALP: the autophagy-lysosome pathway.

图1 动物实验中参与调控ALP的腧穴分布图

Fig. 1 Distribution of acupoints involved in regulating ALP in animal experiments

ALP的缺陷也会导致A β 、tau蛋白的聚集^[9]。Guo等^[10]发现电针干预百会(GV20)和肾俞(BL23)能改善大鼠海马注射A β 诱发的认知障碍,该作用可被自噬抑制剂3-MA减弱;电针提高了A β 注射大鼠海马LC3B-II/I与BECN1(Beclin1,调控早期自噬囊泡形成的关键因子)的蛋白水平,降低了A β 水平,增加了LC3B与A β 共定位,提示电针可能通过促进A β 的自噬降解改善认知。在D-半乳糖诱发的AD大鼠模型中^[11],电针干预百会(GV20)和肾俞(BL23)被报道可改善认知,减少海马区神经突触的缺失以及神经元微管损伤,抑制tau蛋白的磷酸化,其机制可能与抑制GSK3 β /MTOR信号通路有关。此外,朱才丰等^[6]发现隔附子饼灸百会(GV20)、风府(GV16)和大椎(GV14)改善APP/PSI双转基因小鼠的认知障碍,减轻其海马与皮层中A β_{1-42} 的蛋白水平,以及提高海马区的自噬水平(LC3B-II/I, p62的表达)等作用都可以被3-MA减弱。提示隔附子饼灸也可能通过促进A β 的自噬降解而改善AD小鼠的认知障碍。上述研究提示针灸可改善AD相关认知障碍,但是对自噬流、ALP的指标检测不全面,针刺降解A β /tau,改善认知是否的确依赖于ALP缺乏充分的实验证据。

我们团队发现“智三针”可通过激活转录因子TFEB

(ALP的主要调节因子)调控AD小鼠(5x FAD)神经元的自噬水平进而促进 $A\beta$ 的降解^[5]。我们首先证实了电针“智三针”(神庭GV24与双侧神本GB13)能够改善AD小鼠的认知障碍,并发现电针促进AD小鼠脑部APP($A\beta$ 的前体蛋白)与CTFs(APP的C端切割片段)的降解,但对切割APP的蛋白酶 β -分泌酶(BACE1)的活性没有影响。即确定电针可能是通过调控APP/CTFs及 $A\beta$ 的降解从而改善了AD小鼠认知障碍。其次,通过对自噬流、溶酶体活性指标的检测,我们证明了电针可促进不溶性自噬底物SQSTM1/p62的降解,促进自噬小体对 $A\beta$ 的识别(LC3B/ $A\beta$ 共定位),自噬溶酶体的形成(LC3B/CTSD共定位),及溶酶体的生物合成(LAMP1,CTSD的表达)。我们进一步使用溶酶体抑制剂CQ检测电针调控ALP的作用,结果发现电针促进了自噬溶酶体的形成及溶酶体的生物合成,而对自噬小体的合成无影响。在此基础上,我们探究了电针诱导ALP的分子机制,发现电针促进TFEB去磷酸化及核转移(胞核TFEB增多,p-TFEB表达量减少),提高其调控自噬溶酶体生成的转录活性,证明了电针通过上调ALP而加速APP/ $A\beta$ 降解的作用与其提高溶酶体活性和TFEB的表达密切相关。最后,我们发现“智三针”是通过选择性抑制海马/皮层中AKT/MAPK1/MTORC1通路而激活TFEB^[5]。

2.2 帕金森病

作为第二大神经退行性疾病,帕金森病(Parkinson's disease,PD)患者中脑多巴胺能神经元(DA神经元)内 α -突触核蛋白(α -synuclein,SNCA)的错误折叠、聚集亦会导致ALP障碍^[12]。Tian等^[13]发现电针干预阳陵泉(GB34)能改善MPTP诱导的帕金森病小鼠的运动功能障碍,减轻黑质区DA神经元的损伤(络氨酸羟化酶(TH)的表达)以及降低SNCA的蛋白水平。并通过检测造模后不同时间段黑质区SNCA、LC3B-II、LAMP1的动态变化,观察自噬体、溶酶体形态,以及DA神经元溶酶体的活性(TH/LAMP1共定位),发现电针可能是通过修复溶酶体的生物功能促进了SNCA的自噬降解。而除了发现电针干预阳陵泉(GB34)和太冲(LR3)能够改善MPTP小鼠的运动功能障碍,抑制MPTP小鼠纹状体p62,增加BECN1、DJ-1的蛋白水平外,Hsu等^[14]在排除异氟烷麻醉剂对正常小鼠大脑皮层自噬水平的影响的条件下,证明了电针能够提高正常小鼠黑质DA神经元中LC3B的蛋白水平(TH/LC3B共定位);提高黑质、纹状体、海马和大脑皮层的神经元中LC3的蛋白水平,而对星形胶质细胞中LC3B无影响(NeuN/LC3B共定位,GFAP/LC3B共定位);并上调正常小鼠纹状体、海马和大脑皮层的自噬流(根据自噬小体生成,底物的降解,线粒体自噬等多个自噬标志物及相关蛋白的表达)。此外,有研究显示艾灸足三里(ST36)、关元(CV4)和中庭(CV16)能改善鱼藤酮诱导的PD大鼠的运动功能障碍和黑质区DA神经元损伤,抑制SNCA的表达;同时艾灸还提高黑质区LC3B-II,降低p-MTOR和p-P70S6K的表达^[15]。

2.3 脑出血

脑出血(intracerebral hemorrhage,ICH)是指原发性非外伤性脑血管破裂而引发局部脑组织出血,造成神经功能障碍的一类脑血管疾病。ICH会诱发局部脑组织的ALP,但自噬在ICH中的作用尚不明确^[16]。Liu等^[17]通过使用3-MA证明了ICH诱发的自噬对ICH大鼠受损组织的神经功能障碍和神经凋亡的病理表现有改善作用;并发现针刺百会(GV20)和曲鬓(GB7)减轻ICH大鼠的病理损伤的作用可能与其进一步诱导自噬的发生(自噬小体和自噬溶酶体增加,损伤的线粒体减少)有关;此外,该研究还发现针刺增加了受损脑组织中BECN1、PINK、Parkin、NIX,降低了CASP9等蛋白的表达。该结果提示针刺可能通过促进线粒体自噬而减轻ICH引起的神经凋亡和神经功能损伤。另一实验通过使用自噬诱导剂rapamycin证明自噬对ICH大鼠受损组织的病理表现有改善作用;并且报道了针刺减轻ICH大鼠的病理损伤的作用可能与其改善自噬溶酶体生物活性,促进p62的降解,上调自噬流有关^[18]。

2.4 脊髓损伤

脊髓损伤(spinal cord injury,SCI)是一类因脊柱严重受损变形并压迫脊髓或损伤脊髓而导致机体运动功能障碍的一类神经系统疾病。大部分研究显示激活ALP能促进SCI的神经修复^[19]。研究发现电针干预夹脊穴(EX-B2)能改善SCI大鼠模型的运动功能和脊髓组织的损伤程度;抑制损伤组织中坏死标志物RIPK1、RIPK3和MLKL的表达;增加溶酶体和自噬溶酶体的量,增强溶酶体活性,促进p62降解;且以上电针作用能被CQ削弱^[20]。该结果提示电针可能主要是通过提高溶酶体功能上调ALP,从而抑制细胞坏死,减轻组织损伤,改善SCI大鼠的运动功能^[20]。另一研究报道了电针干预大椎(GV14)和命门(GV4)对SCI大鼠的运动功能和脊髓组织的保护作用可能与其调节PI3K/AKT/MTOR通路相关^[21]。此外,在SCI小鼠模型中,代攀等^[22]发现电针干预夹脊穴对脊髓组织及神经功能的保护作用与其抑制内质网应激(降低内质网应激标志物GRP78、CHOP的表达),上调自噬流(降低p62,增加LC3B-II的表达)有关。

2.5 其他

杨云昊等^[23]在探究电针干预太冲(LR3)与肾俞(BL23)调节快速衰老小鼠(SAMP8)肝脏脂质代谢的研究中发现,电针能够明显降低SAMP8小鼠血清总胆固醇、甘油三酯与低密度脂蛋白等指标;降低p62,提高LC3B-II、BECN1、Atg7的表达量。该实验提示电针可能通过提高肝脏细胞的自噬水平而促进快速衰老小鼠肝脏的脂质代谢。Peng等^[24]发现电针干预归来(ST29)和内关(SP6)能够降低DHEA诱导的多囊卵巢综合征(PCOS)大鼠模型卵巢组织中卵泡囊肿的数量、雄性激素、LH和LH/FSH等生化指标的水平,以及CYP17和CYP19的mRNA的表达量,并证明该作用与电针上调ALP有关(增加LC3B-II/I、BECN1,降低p62的蛋白水平,且电针的作用被3-MA减弱)。其次,通过检测葡萄糖

代谢的相关指标(血清胰岛素水平, HOMA-IR 指数, 骨骼肌 GLUT-4、ATG 和 ERK 的水平), 该研究证明了电针能够抑制 DHEA 诱导的胰岛素抵抗, 并且发现该作用与电针抑制 MTOR/4EBP1 信号通路有关; 另外, 该研究还发现电针能够减轻 DHEA 诱导的线粒体功能障碍(增加 Complex I、Complex III 的表达量, 抑制细胞色素 C 的过度转移)和内质网应激(降低 GRP78、ATF4 和 CHOP 的表达); 并且以上电针作用都被 3-MA 减弱。该实验提示电针通过上调 ALP 抑制 DHEA 诱导的胰岛素抵抗、线粒体功能损伤和内质网应激从而改善 PCOS 大鼠的卵巢功能。郝锋等^[25]发现艾灸足三里(ST36)能改善类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)大鼠的关节滑膜细胞形态, 提高 LC3B-II、Beclin-1 的表达量。此外, 在糖尿病肾病^[26], 糖尿病胃痉挛^[27], 带状疱疹后遗神经痛^[28], 胎儿宫内窘迫^[29], 高血压^[30], 脾脏缺乏综合征^[31], 慢性肾病^[32]等相关动物实验中, 针灸效应也可能涉及到提高细胞 ALP 水平。

3 针灸通过下调自噬溶酶体通路治疗疾病

3.1 脑缺血再灌注与脑损伤

脑缺血再灌注(cerebral ischemia/reperfusion, CIR)^[33]是大部分脑中风的典型病理表现。CIR 后, 过度活跃的 ALP 会加速脑损伤区域的神经元坏死^[34]。在大脑中动脉闭塞/再灌注诱导的 CIR 大鼠模型中, 电针干预曲池(LI11)、足三里(ST36)或百会(GV20)被报道能够通过抑制自噬水平(p62、LC3B-II), 减少 CIR 后病灶区域的体积, 减轻神经功能缺损, 且该作用或与上调 PI3K/AKT/MTOR 通路有关(PI3K 抑制剂可抵消电针对 CIR 同侧海马自噬流的调节作用)^[35]; 或与激活 SIRT1-FOXO1 信号通路有关(SIRT1 的抑制剂 EX527 能消减电针对 CIR 皮层自噬流的调节作用)^[36]。而 Sun 等^[7]发现电针干预百会(GV20)和曲鬓(GB7)可能通过抑制内质网应激导致的自噬与凋亡, 从而减轻 CIR 大鼠的脑损伤。该实验首先确定了电针能减轻 CIR 大鼠病灶的损伤; 并通过电针联合内质网应激抑制剂 4-PBA 或活化剂 TM, 发现电针减轻 CIR 脑损伤的作用与其调控 PERK/IRE1/ATF-6 信号通路抑制皮层、海马和纹状体的内质网应激有关。其次, 该实验发现电针抑制了 CIR 大鼠脑损伤组织的自噬流(增加 p62, 减低 LC3B-II/I 和 Beclin-1 的表达), 且该作用被 TM 减弱, 即证明了电针可能通过抑制 CIR 大鼠脑组织内质网应激而下调 ALP; 还发现电针抑制 CIR 大鼠脑损伤组织中的细胞凋亡(降低 Bax、CASP3、CASP9 和 CASP12, 增加 Bcl-2 的表达量), 该作用也被 TM 消减, 即证明了电针通过抑制 CIR 大鼠脑组织内质网应激而减少细胞凋亡。而在其他实验中, 电针水沟穴(GV26)^[37]或眼针干预^[38]也被报道能抑制 CIR 大鼠的病灶区域组织的细胞凋亡和自噬水

平。此外, Zheng 等^[8]发现电针干预百会(GV20)和大椎(GV14)降低脑中风大鼠中枢性疼痛的指标, 修复损伤脑组织细胞器形态的作用可能与其降低海马区 COX-2 和 β -Catenin 的表达, 抑制 ALP 水平(增加 LC3B-II/I、LAMP1, 减少 p62 的表达)有关。

3.2 心肌病

心肌缺血再灌注(myocardial ischemia/reperfusion, MIR)是冠状动脉梗阻一段时间后, 再灌注造成缺血组织进一步加重损伤的病理过程。该过程的病理机制与过度活跃的 ALP 密切相关^[39]。Xiao 等^[40]发现在造模前电针干预内关(PC6)能减轻 MIR 大鼠的心肌损伤和细胞凋亡; 还能减少 MIR 大鼠心肌组织中自噬囊泡的数量、抑制线粒体与溶酶体的融合(线粒体与 LAMP2 共定位), 降低 ULK1、FUNDC1, 增加 MTORC1 的表达; 且以上作用都会被 rapamycin (MTORC1 的抑制剂)消除。该实验提示电针可能通过调控 MTORC1/ULK1/FUNDC1 信号通路抑制线粒体自噬而发挥保护心肌的作用。而对于急性心肌缺血大鼠模型, 有研究发现针刺干预心经五输穴能够改善心肌损伤, 降低缺血部位心肌的 PINK 和 Parkin 的表达量, 而肺经的五输穴没有该作用^[41]; 也有实验发现电针干预通里(HT5)和神门(HT7)可以保护心肌组织, 提高心肌细胞中 p-AKT/AKT 与 p-MTOR/MTOR 的表达^[42]。此外, 艾灸对慢性心肌病大鼠的心肌组织也有保护作用, 研究发现艾灸肺俞(BL13)和心俞(BL15)对慢性心肌病大鼠心肌组织的保护作用可能与下调 FUNDC 信号通路(降低 ULK1、PGAM5、FUNDC1 与 p-FUNDC1 的表达), 抑制 ALP(降低 LC3B-II/I, 增加 p62 的表达)有关^[3]; 也可能与上调心肌组织中 p-MTOR/MTOR, 降低 AKT、BECN1 和 p53 的表达有关^[4]。

3.3 其他

在 TNBS 诱导的慢性肠炎(Crohn's disease, CD)大鼠模型中, 艾灸天枢(ST25)和气海(CV6)可能对损伤的结肠粘膜有修复作用, 且该作用可能与艾灸抑制结肠粘膜组织的自噬水平有关^[43], 也可能与艾灸通过下调 ALP 而减轻 CD 大鼠结肠粘膜组织的炎症反应有关^[44]。此外, 在哮喘^[45], 慢阻肺^[46], 转化性结肠癌^[47], 抑郁^[48], 功能性消化不良^[49]等动物研究中也有报道针灸干预的作用与抑制 ALP 相关。

4 讨论

ALP 是降解大分子蛋白质和坏损细胞器的重要生物机制, 包括从自噬相关蛋白招募形成囊泡(自噬的起始阶段, 例如 ULK1/Atg1 复合物的形成^[50], PI3K/VPS34 复合物的形成^[51]等)到完整的双层膜结构的自噬小体的形成(自噬体的发展成熟阶段, 例如 LC3-I 向 LC3-II 的转化, ATG8 复合物的加工)、溶酶体的合成与成熟(例如溶酶体膜蛋白 LAMP1, LAMP2 及溶酶体酶 Cathepsin B, Cathepsin D 的合

成,以及自噬小体膜结构与溶酶体膜结构相融合,底物暴露于溶酶体内腔被溶酶体酶降解)。该过程的发生受MTOR, AMPK, BECN1, SNARE TFEB/TFE3 和 Rab 蛋白等生物因子参与的多种调节机制所调控^[52]。ALP降解底物的能力称作自噬流或自噬通量,是自噬研究中通常需要首先观察和确认的指标。对于通过调控ALP改善疾病病理特征的实验研究,首先要明确自噬流的变化对疾病模型整体的影响。自噬水平在同一疾病的不同发病阶段中变化可能是不一致的,如在AD的早期,大脑神经元内自噬流一般是提高的,这个阶段上调的ALP可以协助神经元加速降解刚刚聚集的蛋白质异构体,但随着AD病理的不断加重,大量过度积聚的蛋白质会破坏ALP功能,从而抑制神经元的自噬流^[53]。所以明确实验所复制的疾病模型自身的自噬流水平的变化,以及这种变化对疾病病理发展的作用(抑制或促进)是研究中首要考虑的问题。如果在一些疾病中,ALP的变化对病理损伤的作用是不明确(如脑出血后,出血部位组织中ALP的变化可能是机体为维持细胞内环境稳态而加速降解坏损细胞器的应激反应,也可能是加速神经元死亡的异常表现^[16]),这类实验应该首先通过上调或者下调自噬,证明ALP对疾病病理的抑制或促进作用。如Liu等^[17]通过使用3-MA证明了脑出血诱发的自噬对ICH大鼠神经功能障碍和组织损伤的病理表现具有一定改善作用,继而在此前提下,进一步研究了电针干预对ICH大鼠的保护作用与其调节ALP的关系。

另一方面,还应当注意评估针灸改善病理表现的作用是否与调节ALP相关。以我们自己的研究为例^[5],首先已知在AD的病理机制中A β 的降解与ALP是密切相关,当发现电针可能促进A β 的降解后,我们才进一步检测了自噬流的重要指标,并通过使用CQ来干扰电针调控ALP的作用效果而证明了电针调控ALP水平与改善AD的病理表现是直接相关的(CQ减弱了电针降解A β 的能力、上调ALP的能力,以及改善AD小鼠的认知能力)^[5]。而在某些研究中,若针灸所改善的相关病理指标与ALP不存在相关性时,检测自噬流指标对探究针灸疗效的实验目的而言意义不大。另

外,研究针灸对正常机体的生物调节作用对疾病的预防与治疗意义深远,而现在相关疾病的动物研究中一般会忽略掉针灸对正常对照组实验动物的干预效应。

值得引起重视的是,目前针灸研究中对ALP及自噬流的检测存在一些缺陷:第一,多数实验没有检测自噬流的变化。LC3B-II和p62是监测自噬通量的标志物,LC3B是参与自噬体形成的重要蛋白质,其经修饰后主要分为位于细胞质中游离的LC3B-I和参与组成自噬体双层膜结构的LC3B-II,其中LC3B-II是定位自噬小体并评估其状态的标志性蛋白。而自噬底物转运蛋白p62能够识别细胞质中需要被降解的底物蛋白并随底物一起被转运至自噬体内,随着自噬的发生,p62和底物最终在自噬溶酶体中被溶酶体酶降解,故p62的表达量能反映自噬溶酶体降解底物的能力,结合LC3B-II与p62的蛋白水平才能初步评估自噬流的变化^[54]。同时,需要考虑可溶性/不溶性p62以及溶酶体指标(LAMP1, CTSD等)的检测。但在针灸研究中,部分实验只检测了LC3B-II或p62;或没有检测这两个自噬标志物的蛋白水平,而是检测了ALP相关分子通路上其他蛋白质的变化。这两种情况都不能直接判断针灸对ALP的调控作用。第二是有关自噬诱导剂/抑制剂的使用。当确定针灸可以改善疾病模型的病理表现并对ALP存在调控作用时,我们可以使用自噬诱导剂/抑制剂进一步验证针灸诱导自噬的作用与其治疗作用是否相关,然后进一步定位针灸具体改变了ALP的哪个阶段。

5 总结与展望

通过回顾针灸相关的基础研究,本文归纳了针灸通过调控ALP改善不同疾病病理表现的研究进展。目前针灸治疗疾病的机制研究仍处于起步阶段,但现阶段针灸调控ALP的研究数据已经能逐步反映出针灸改善特定病理表现的良好效果。未来若能详细阐释穴位选择性、特异性调控病理机制的物质基础,将会有益于疾病的预防与治疗。

参考文献

- [1] Lu L, Zhang Y, Tang X, et al. Evidence on acupuncture therapies is underused in clinical practice and health policy [J]. *BMJ*, 2022, 376: e067475.
- [2] Yu L, Chen Y, Tooze SA. Autophagy pathway: cellular and molecular mechanisms [J]. *Autophagy*, 2018, 14(2): 207-215.
- [3] Xia R, Wang W, Gao B, et al. Moxibustion alleviates chronic heart failure by regulating mitochondrial dynamics and inhibiting autophagy [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(5): 359.
- [4] 李庆玲, 马强, 李悦, 等. 艾灸对慢性心力衰竭大鼠心功能及心肌细胞自噬相关蛋白表达的影响 [J]. 针刺研究, 2020, 45(4): 259-263.
Li QL, Ma Q, Li Y, et al. Effect of moxibustion on cardiac function and expression of autophagy-related proteins of cardiomyocytes in chronic heart failure rats [J]. *Acupunct Res*, 2020, 45(4): 259-263.
- [5] Zheng X, Lin W, Jiang Y, et al. Electroacupuncture

- ameliorates beta-amyloid pathology and cognitive impairment in Alzheimer disease via a novel mechanism involving activation of TFEB (transcription factor EB) [J]. *Autophagy*, 2021, 17(11): 3833-3847.
- [6] 朱才丰, 张利达, 宋小鸽, 等. 艾灸督脉对阿尔茨海默病转基因小鼠自噬水平及学习记忆能力的影响 [J]. *针刺研究*, 2019, 44(4): 235-241.
Zhu CF, Zhang LD, Song XG, et al. Moxibustion improves learning-memory ability by promoting cellular autophagy and regulating autophagy-related proteins in hippocampus and cerebral cortex in APP/PS1 transgenic Alzheimer's disease mice [J]. *Acupunct Res*, 2019, 44(4): 235-241.
- [7] Sun X, Liu H, Sun Z, et al. Acupuncture protects against cerebral ischemia-reperfusion injury via suppressing endoplasmic reticulum stress-mediated autophagy and apoptosis [J]. *Mol Med*, 2020, 26(1): 105.
- [8] Zheng L, Li XY, Huang FZ, et al. Effect of electroacupuncture on relieving central post-stroke pain by inhibiting autophagy in the hippocampus [J]. *Brain Res*, 2020, 1733: 146680.
- [9] Zhang Z, Yang X, Song YQ, et al. Autophagy in Alzheimer's disease pathogenesis: therapeutic potential and future perspectives [J]. *Ageing Res Rev*, 2021, 72: 101464.
- [10] Guo HD, Zhu J, Tian JX, et al. Electroacupuncture improves memory and protects neurons by regulation of the autophagy pathway in a rat model of Alzheimer's disease [J]. *Acupunct Med*, 2016, 34(6): 449-456.
- [11] Yu CC, Wang J, Ye SS, et al. Preventive electroacupuncture ameliorates D-galactose-induced Alzheimer's disease-like pathology and memory deficits probably via inhibition of GSK3beta/mTOR signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 1428752.
- [12] Lizama BN, Chu CT. Neuronal autophagy and mitophagy in Parkinson's disease [J]. *Mol Aspects Med*, 2021, 82: 100972.
- [13] Tian T, Sun Y, Wu H, et al. Acupuncture promotes mTOR-independent autophagic clearance of aggregation-prone proteins in mouse brain [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19714.
- [14] Hsu WT, Chen YH, Yang HB, et al. Electroacupuncture improves motor symptoms of Parkinson's disease and promotes neuronal autophagy activity in mouse brain [J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(7): 1651-1669.
- [15] Wang SJ, Wang Q, Ma J, et al. Effect of moxibustion on mTOR-mediated autophagy in rotenone-induced Parkinson's disease model rats [J]. *Neural Regen Res*, 2018, 13(1): 112-118.
- [16] Zhang Y, Khan S, Liu Y, et al. Modes of brain cell death following intracerebral hemorrhage [J]. *Front Cell Neurosci*, 2022, 16: 799753.
- [17] Liu P, Yu X, Dai X, et al. Scalp Acupuncture attenuates brain damage after intracerebral hemorrhage through enhanced mitophagy and reduced apoptosis in rats [J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 718631.
- [18] Liu H, Zhang B, Li XW, et al. Acupuncture inhibits mammalian target of rapamycin, promotes autophagy and attenuates neurological deficits in a rat model of hemorrhagic stroke [J]. *Acupunct Med*, 2022, 40(1): 59-67.
- [19] Liao HY, Wang ZQ, Ran R, et al. Biological functions and therapeutic potential of autophagy in spinal cord injury [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 761273.
- [20] Hongna Y, Hongzhao T, Quan L, et al. Jia-Ji Electro-acupuncture improves locomotor function with spinal cord injury by regulation of autophagy flux and inhibition of necroptosis [J]. *Front Neurosci*, 2020, 14: 616864.
- [21] Li K, Liu J, Song L, et al. Effect of electroacupuncture treatment at Dazhui (GV14) and Mingmen (GV4) modulates the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in rats after spinal cord injury [J]. *Neural Plast*, 2020, 2020: 5474608.
- [22] 代攀, 黄思琴, 唐成林, 等. 电针“夹脊”穴调节细胞自噬及内质网应激对脊髓损伤小鼠的修复作用 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(1): 45-51.
Dai P, Huang SQ, Tang CL, et al. Effects of electroacupuncture at "Jiaji" (EX-B2) on autophagy and endoplasmic reticulum stress in spinal cord injury mice [J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(1): 45-51.
- [23] 杨云昊, 庞芳, 黄思琴, 等. 电针对快速衰老小鼠肝脏自噬及脂质代谢的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2021, 37(4): 365-370.
Yang YH, Pang F, Huang SQ, et al. Effects of elec-

- troacupuncture on autophagy factors and liver lipid metabolism in rapidly aging mice [J]. *Chin J Appl Physiol*, 2021, 37(4): 365-370.
- [24] Peng Y, Guo L, Gu A, et al. Electroacupuncture alleviates polycystic ovary syndrome-like symptoms through improving insulin resistance, mitochondrial dysfunction, and endoplasmic reticulum stress via enhancing autophagy in rats [J]. *Mol Med*, 2020, 26(1): 73.
- [25] 郝锋, 刘磊, 桑佳佳, 等. 艾灸对类风湿性关节炎大鼠滑膜组织自噬相关分子表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2020, 45(10): 793-798.
- Hao F, Liu L, Sang JJ, et al. Effect of moxibustion on expression of autophagy related molecules in synovial tissues of rheumatoid arthritis rats [J]. *Acupunct Res*, 2020, 45(10): 793-798.
- [26] 黄海, 陈丽, 武欢, 等. 电针对糖尿病肾病大鼠肾功能及肾脏自噬表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2022, 47(2): 108-114.
- Huang H, Chen L, Wu H, et al. Effect of electroacupuncture on renal function and expression of autophagy-related proteins in kidney of rats with diabetic nephropathy [J]. *Acupunct Res*, 2022, 47(2): 108-114.
- [27] Wei X, Lin Y, Zhao D, et al. Electroacupuncture relieves suppression of autophagy in interstitial cells of cajal of diabetic gastroparesis rats [J]. *Can J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 2020: 7920715.
- [28] Zou J, Dong X, Wang K, et al. Electroacupuncture inhibits autophagy of neuron cells in postherpetic neuralgia by increasing the expression of miR-223-3p [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 6637693.
- [29] 高静, 赖名殷, 秦玮珣, 等. 针刺对宫内窘迫缺血缺氧脑损伤新生大鼠行为学及海马神经元自噬的影响 [J]. *针刺研究*, 2020, 45(4): 275-280.
- Gao J, Lai MY, Qin WX, et al. Acupuncture improves locomotor activity and learning-memory ability by improving hippocampal cellular autophagy in rats with fetal intrauterine distress [J]. *Acupunct Res*, 2020, 45(4): 275-280.
- [30] 张跃, 纪智, 袁静云, 等. 电针“百会”“太冲”对自发性高血压大鼠心肌肥大和自噬的影响 [J]. *针刺研究*, 2019, 44(2): 90-94.
- Zhang Y, Ji Z, Yuan JY, et al. Regulating effect of electroacupuncture on left ventricular function and autophagy-specific proteins in spontaneously hypertensive rats [J]. *Acupunct Res*, 2019, 44(2): 90-94.
- [31] 董佳梓, 张妤, 魏云涛, 等. 电针“足三里”对脾虚大鼠骨骼肌线粒体自噬相关蛋白表达的影响 [J]. *中国针灸*, 2018, 38(7): 741-746.
- Dong J, Zhang Y, Wei YT, et al. Effects of electroacupuncture at "Zusanli" (ST 36) on expression of mitophagy-related proteins in skeletal muscle in rats with spleen deficiency syndrome [J]. *Chin Acupunct Moxi*, 2018, 38(7): 741-746.
- [32] Su Z, Klein JD, Du J, et al. Chronic kidney disease induces autophagy leading to dysfunction of mitochondria in skeletal muscle [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312(6): F1128-F1140.
- [33] Wang P, Shao BZ, Deng Z, et al. Autophagy in ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163-164: 98-117.
- [34] Ajoalabady A, Wang S, Kroemer G, et al. Targeting autophagy in ischemic stroke: from molecular mechanisms to clinical therapeutics [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 225: 107848.
- [35] Wang MM, Zhang M, Feng YS, et al. Electroacupuncture inhibits neuronal autophagy and apoptosis via the PI3K/AKT pathway following ischemic stroke [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 134.
- [36] Mei ZG, Huang YG, Feng ZT, et al. Electroacupuncture ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via the SIRT1-FOXO1 signaling pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(13): 13187-13205.
- [37] Cao S, Yang Y, Yu Q, et al. Electroacupuncture alleviates ischaemic brain injury by regulating the miRNA-34/Wnt/autophagy axis [J]. *Brain Res Bull*, 2021, 170: 155-161.
- [38] 浦延鹏, 王鹏琴. 眼针对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织自噬的影响 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(2): 100-105.
- Pu YP, Wang PQ. Effect of eye acupuncture on autophagy in brain tissue of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(2): 100-105.
- [39] Mokhtari B, Badalzadeh R. The potentials of distinct functions of autophagy to be targeted for attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury in preclinical studies: an up-to-date review [J]. *J Physiol Bio-*

- chem, 2021, 77(3): 377-404.
- [40] Xiao Y, Chen W, Zhong Z, et al. Electroacupuncture preconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting mitophagy mediated by the mTORC1-ULK1-FUNDC1 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110148.
- [41] Zhu C, Wu S, Wu X, et al. Effect of electroacupuncture at Wushu acupoints of the cardiopulmonary meridian on the autophagy in rats with acute myocardial ischemia [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 2114517.
- [42] 吴立斌, 张帆, 余情, 等. 电针心经腧穴对急性心肌缺血大鼠心肌Akt/mTOR通路的影响 [J]. *针刺研究*, 2022, 47(2): 121-128.
- Wu LB, Zhang F, Yu Q, et al. Electroacupuncture of acupoints of heart meridian ameliorates acute myocardial ischemia via Akt/mTOR pathway [J]. *Acupunct Res*, 2022, 47(2): 121-128.
- [43] Zhao J, Ma Z, Zheng H, et al. Effects of herb-partitioned moxibustion on autophagy and immune activity in the colon tissue of rats with crohn's disease [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 3534874.
- [44] Wang SY, Zhao JM, Zhou CL, et al. Herbal cake-partitioned moxibustion inhibits colonic autophagy in Crohn's disease via signaling involving distinct classes of phosphatidylinositol 3-kinases [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(39): 5997-6014.
- [45] Zhao H, Dong F, Li Y, et al. Inhibiting ATG5 mediated autophagy to regulate endoplasmic reticulum stress and CD4(+) T lymphocyte differentiation: mechanisms of acupuncture's effects on asthma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142: 112045.
- [46] 程晨, 张新芳, 苏景超, 等. 电针对慢性阻塞性肺疾病大鼠肺组织自噬相关蛋白表达的影响 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 266-271.
- Cheng C, Zhang XF, Su JC, et al. Effect of electroacupuncture on the expression of autophagy related protein in lung tissue of rats with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(4): 266-271.
- [47] 李金骁, 刘娜, 周民锋, 等. 电针激活沉默信息调节因子1干预结直肠癌炎癌转化小鼠的机制研究 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(12): 996-1004.
- Li JX, Liu N, Zhou MF, et al. Electroacupuncture postpones growth of tumors by activating SIRT1 expression to reduce inflammatory reaction and facilitate cellular autophagy in mice with transformed colorectal carcinomas [J]. *Acupunct Res*, 2021, 46(12): 996-1004.
- [48] Zhang Z, Cai X, Yao Z, et al. EA Ameliorated depressive behaviors in CUMS rats and was related to its suppressing autophagy in the hippocampus [J]. *Neural Plast*, 2020, 2020: 8860968.
- [49] 潘小丽, 周丽, 王丹, 等. 电针“足三里”对功能性消化不良大鼠胃排空及自噬信号通路的影响 [J]. *针刺研究*, 2019, 44(7): 486-491.
- Pan XL, Zhou L, Wang D, et al. Electroacupuncture at "Zusanli" (ST36) promotes gastrointestinal motility possibly by suppressing excessive autophagy via AMPK/ULK1 signaling in rats with functional dyspepsia [J]. *Acupunct Res*, 2019, 44(7): 486-491.
- [50] Turco E, Fracchiolla D, Martens S. Recruitment and activation of the ULK1/Atg1 kinase complex in selective autophagy [J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(1): 123-134.
- [51] Ohashi Y, Tremel S, Williams RL. VPS34 complexes from a structural perspective [J]. *J Lipid Res*, 2019, 60(2): 229-241.
- [52] Zhao YG, Codogno P, Zhang H. Machinery, regulation and pathophysiological implications of autophagosome maturation [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(11): 733-750.
- [53] Hu Z, Yang B, Mo X, et al. Mechanism and regulation of autophagy and its role in neuronal diseases [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52(3): 1190-1209.
- [54] Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)¹ [J]. *Autophagy*, 2021, 17(1): 1-382.

(编辑 祁方昉)